NIPPON Genetics Co.,Ltd.

お客様からの製品フィードバック

製　品　名：① KAPA2GRobust HotStart ReadyMix with Dye
② KAPA MG Kit
メーカー名：KAPA BIOSYSTEMS 社
アプリケーション：マウスジェノタイピング

下記のデータは、国内のお客様のご厚意により掲載させて頂きました。

テスト1：KAPA 2G Robust HS ReadyMix PCR Kit

●比較検討試薬

1. KAPA ：KAPA2GRobust HotStart ReadyMix with Dye
2. Ta社 ：ブレンドタイプ酵素
3. Tb社 ：クルードサンプル用酵素

● 前処理

mouse tail
↓add 150μl of 50mM NaOH
95℃ 50min
↓add 15μl of 1M Tris HCl（pH8.0）
invert and spin down

● 反応液組成　各社取扱説明書どおり

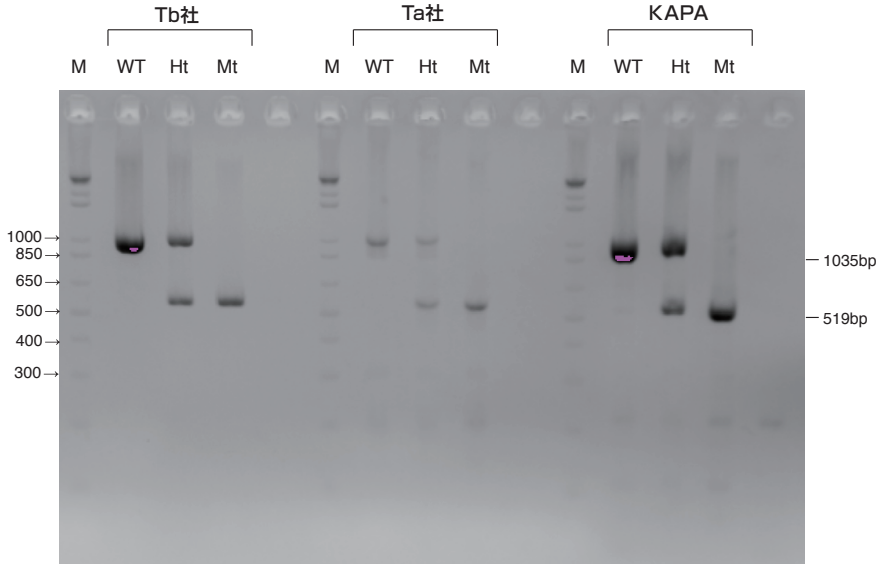
Tb 社　　：50μl 反応
Ta 社、KAPA：20μl 反応
※いずれも DNA 粗抽出液 1μl を添加

● PCR 条件

	Step	Tb社	Ta社	KAPA
1	Initial denation	94°C 2min	94°C 2min	95°C 3min
2	Denaturation	98°C 10sec	98°C 10sec	95°C 15sec
3	Primer annealing	60°C 30sec	60°C 30sec	60°C 15sec
4	Extension	68°C 2min	68°C 2min	72°C 15sec
5	Final extension	-	-	72°C 10min
6	cooling	4°C ∞	4°C ∞	4°C ∞
2-4		×30	×30	×35
	total time(min)	82	82	39

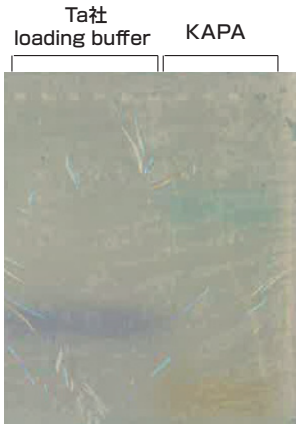
● 電気泳動　4%nusive agalose (100V 40min)

● 泳動結果



M　：1Kb plus ladder
WT：wild type
Ht　：hetero
Mt　：mutant

● loading buffer の比較



他の loading buffer よりもサンプルの泳動位置が判りやすい。

● 結果まとめ

	sample	Tb社	Ta社	KAPA
1	WT	WT	WT	WT
2	hetero	hetero	hetero	hetero
3	mutant	mutant	mutant	mutant

テスト2：KAPAMG Kit

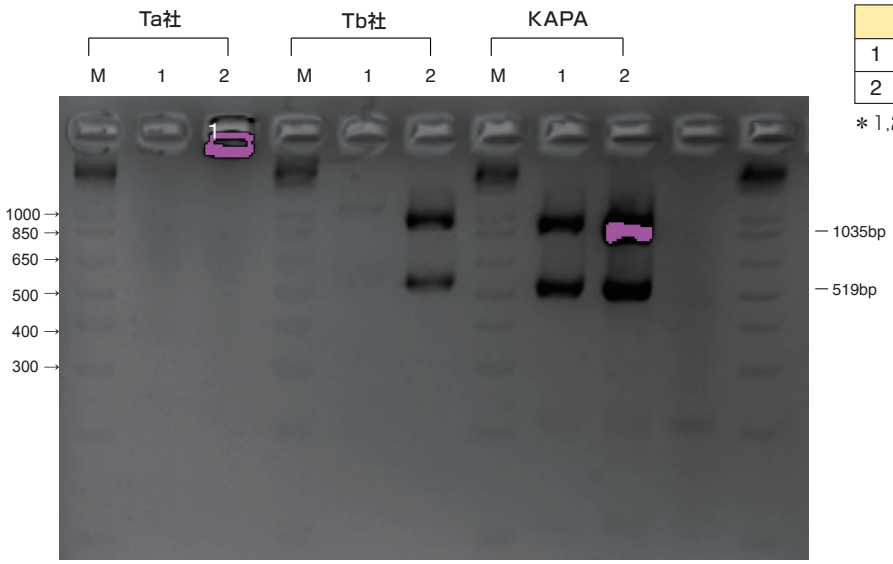
●DNA 抽出

1：KAPA Express Extract kit抽出（75℃ 10分、95℃5分）
2：50mMNaOH抽出（95℃ 50分）
⇒KAPA kit抽出の方が抽出時間が短い。

● 前処理・反応液組成・PCR 条件

前ページ参照

● 泳動結果



M：1Kb plus ladder
1 ：KAPA kit抽出
2 ：NaOH抽出

● 結果まとめ

	sample	Ta社	Tb社	KAPA
1	KAPA kit抽出	—	—	○
2	50mMNaOH抽出	—	○	○

＊1,2 共に hetero sample を使用。

<お客様のコメント>

我々が普段genotypingを行っているマウスの一系統について検討を行った結果です。
このサンプルはTa社製品ではかかりずらく、Tb社製品ではかかるため、普段は後者を用いてgenotypingを行っています。
今回はそれらをネガコン、及びポジコンとして、KAPA社製品を検討しました。

1ページ目のKAPA 2G Robust HS ReadyMix PCR Kitでは、WT, hetero, mutantについて、それぞれ3種類の酵素で検討を行っております。
WTとmutantではそれぞれ高さの違う所に1本、heteroではそれらが両方出ます。
マウスの尻尾からのゲノム抽出は、我々は普段行っているNaOHによる方法を用いました。
結果をご覧頂くと分かるように、KAPA 2G Robust HS ReadyMix PCR Kitはこれまで使っていた酵素よりもPCRのかかりが良い結果が得られました。

2ページ目のMG Kitについては、先ほどのheteroのサンプルについて、それぞれ3種類の酵素で検討を行っております。
マウスの尻尾からのゲノム抽出については、我々は普段行っているNaOHによる方法と、MG Kitの方法を検討しました。
その結果、MG Kitを用いて抽出、PCRを行ったものは一番PCRのかかりが良い結果が得られました。
また、NaOH抽出→MG Kitの酵素でPCRの場合にもPCRはかかりました。一方、MG Kitで抽出した際には、他のPCR酵素ではPCRはかかりませんでした。

以上より、KAPAの酵素及びKitは、マウス尻尾からのgenotypingについては非常に良くワークするものであると思います。

日本ジェネティクス株式会社 http://www.n-genetics.com

本　　社：〒113-0033　東京都文京区本郷6-17-9　本郷綱ビル3F　Tel. 03 (3813) 0961　Fax. 03 (3813) 0962
西日本営業所：〒604-8277　京都府京都市中京区西洞院通御池下ル565番地　ラフィーネ御池3F　Tel. 075 (257) 5421　Fax. 075 (257) 5422